



Title	亜鉛-鉄混成ヘモグロビンを用いたヘモグロビンの酸素結合中間段階と協同性の研究
Author(s)	尹, 慶黙
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43545
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	尹 慶 黙
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 17139 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科システム人間系専攻
学位論文名	亜鉛-鉄混成ヘモグロビンを用いたヘモグロビンの酸素結合中間段階と協同性の研究
論文審査委員	(主査) 教授 若林 克三 (副査) 教授 村上富士夫 教授 柳田 敏雄 助教授 今井 清博

論文内容の要旨

ヘモグロビン (Hb) の酸素結合における協同効果のメカニズムを理解するためには、酸素分子が部分的に (1個、2個、3個) 結合した中間状態分子の性質を知ることが重要となる。ところが、Hbのように協同性の強い系では中間状態を直接研究するのが難しいため、金属置換混成 Hb を中間状態のモデルとした研究が行われてきた。混成 Hb は、Hb の 4 つのサブユニットが天然の Hb に比べて異質なものの組合せでできている場合の呼び名である。本研究ではデオキシヘムのモデルとして、Zn-プロトポルフィリンIXを用いた Zn-Fe 混成 Hb (Zn-プロトポルフィリンIXには酸素分子が結合しない) を使って中間状態の協同性を研究した。中間状態分子は全部で 8 種類ある。このうち、異質の二量体の組合せから成る 6 種類の非対称な混成 Hb の研究には実験上の問題から単一分子種として作製が難しい。Hb には四量体-二量体平衡反応 ($\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons \alpha\beta + \alpha\beta$) があるため、これらの非対称分子を単離することができない。非対称分子を作ったとしても、四量体-二量体平衡反応で溶液中には望ましくない分子種も表れるので、非対称分子の協同性を研究することが出来なかった。2種類の対称混成 Hb は単一分子種として安定的に作製でき、従来方法で協同性を調べることが可能である。本研究では、ZnHb と FeHb の混合溶液中に存在する非対称分子、 $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})][\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]$ の酸素平衡曲線を混合溶液の酸素平衡曲線の解析から求める試みを行ったが、非対称分子の相対的な濃度が酸素飽和度に依存して大幅に変化するため従来の方法では酸素結合のパラメータを決めることが出来なかった。新しいアプローチとして O_2 -ジャンプ・ストップド・フロー法を用いて非対称分子の酸素結合パラメータを決めた。 $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})][\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]$ のような非対称分子は、Hb の酸素化に伴う協同作用と構造変化を説明する M.W.C.モデルに替わる説として約15年前から Ackers らによって主張されている Symmetry Rule モデルの根拠になる非対称分子である。ところが、本研究で得られた結果では、彼らの主張通りの特別に強い協同性はみられなかった。 $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})][\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]$ の協同性は 2 種類の対称混成 Hb とかわらない。Ackers らの主張している $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})][\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]$ の非対称 Hb の強い協同性は、実験方法の違いにより比較対象になる Hb 分子の低い協同性が原因と考えられる。

論文審査の結果の要旨

ヘモグロビン (Hb) の協同的酸素結合のメカニズムを解明するには、酸素化中間段階の分子種の特性を明らかにすることが必須であるが、それらを単離することが原理的に不可能という困難さのために、ほぼ1世紀にわたる研究にもかかわらず、未だ十分な知見が得られていない。本論文は、この課題に対する一つのアプローチとして、デオキシヘムのモデルとしての亜鉛プロトポルフィリンIXと通常の鉄プロトポルフィリンIX (プロトヘムIX) をそれぞれ2個ずつもつ四量体混成 Hb の酸素平衡特性を、独特の方法によって明らかにし、現在提唱されているモデルの厳密な批判を行ったものである。本研究では、成人 Hb の2個の α 鎖または2個の β 鎖に亜鉛プロトポルフィリンIXをもつ対称型混成 Hb である $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Fe})]_2$ と $[\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Zn})]_2$ に加えて、片方の $\alpha 1 \beta 1$ タイプ二量体に亜鉛プロトポルフィリンIXをもつ非対称型混成 Hb である $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})][\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]$ の合計3種類の混成 Hb の酸素平衡曲線を測定した。はじめの2つの Hb は通常の方法で測定したが、3つ目の Hb は、その親 Hb である $[\alpha(\text{Zn})\beta(\text{Zn})]_2$ と $[\alpha(\text{Fe})\beta(\text{Fe})]_2$ が共存したままで、 O_2 -ジャンプ・ストップ・フロー法を適用するという新しい手法で測定している。その結果、この非対称型混成 Hb の酸素平衡特性は、他の2つの対称型混成 Hb のものとほぼ同じであることが判明した。この結果は、従来から米国の Ackers グループが主張している、いわゆる“対称性規則 Symmetry rule” を否定するものである。Ackers グループは種々の間接的な測定法の組み合わせに基づいて、四量体 Hb 内の $\alpha 1 \beta 1$ 二量体には強い協同作用があり、その酸素化が T 状態から R 状態への四次構造転移の鍵であるという主張をしているが、今回のより直接的な方法により、 $\alpha 1 \beta 1$ 二量体の協同作用は特には強くないことが明らかとなり、彼らの説は否定された。現在、Ackers グループの説が広く認められつつある中で、より直接的で説得力のある方法でそれを否定するとともに、酸素化中間体の新しい知見を加えることは、国内外の Hb 研究者の認識の変革をせまり、今後の Hb の協同作用のメカニズム解明の大きな原動力になることが期待される。また、本研究で用いられた解析手法は、今後も他の酸素化中間体の研究にも有用である。従って、本論文は、国際的に高く評価される独創的な研究の成果を述べたもので、博士 (工学) の学位論文として価値のあるものと認める。